

Der Nachweis von Sperma
in der gerichtlichen Medizin.
(Kritik der Methoden).

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt der

hohen medizinischen Fakultät

der

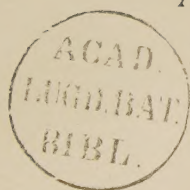
Albert-Ludwigs-Universität

zu Freiburg im Breisgau.

von

Hans Hermann

aus Memmingen.



Memmingen 1911.

Buchdruckerei von Fritz Jauch.

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät
der Universität Freiburg i. Br.

Dekan: Geh. Rat Professor Dr. v. Kries.

Referent: Professor Dr. Schüle.

Meinen lieben Eltern
in Dankbarkeit und Verehrung
zugeeignet.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Die große Zahl der angegebenen, wieder verworfenen und noch geübten Methoden zum Nachweis menschlichen Spermas beweist an sich schon, daß wir noch weit davon entfernt sind, diesen, in forensischer Beziehung so wichtigen Gegenstand als abgeschlossen zu erachten und daß eine absolut gute Reaktion bisher noch nicht existiert.

Wir haben nun ja im Spermatozoon einen so charakteristischen Bestandteil, daß dessen Nachweis für die Diagnose „Sperma“ absolut beweisend ist; aber es erscheint von vornherein klar, daß ein organisches Gebilde dieser Art gewissen Einflüssen chemischer, thermischer und infolge seiner Fragilität vor allem auch mechanischer Natur unterworfen ist, die seiner Existenz Grenzen ziehen. Ebenso läßt uns naturgemäß in Fällen von Azoospermie eine Methode, die sich auf den Nachweis von Samenfäden gründet, im Stich.

Es erregte daher kein geringes Aufsehen, als im Jahre 1895 — Florence in den „Archives d'Anthropologie criminelle“ ein neues Verfahren an die Öffentlichkeit brachte, das mit Umgehung der morphologischen Elemente den Nachweis menschlichen Spermas auf mikro-chemischem Wege möglich machen sollte. Florence kalkulierte, daß eine functionell so hoch differenzierte Flüssigkeit wie das Sperma spezifische Körper enthalten müsse. Er hatte dabei hauptsächlich an alkaloidhaltige Körper gedacht und nun sämtliche Alkaloid-Reagentien in ihrer Wirkungsweise auf Sperma durchgeprobt. Dabei machte er schließlich die überraschende Entdeckung, daß beim Zusammenbringen mit einer Lösung von Jod-Jodkali eigentümliche, braungefärbte Kristalle auftreten; dieselben haben zum größten Teil rhombische Gestalt

und ähneln am meisten den Haeminkristallen, daneben kommen allerdings auch atypische Formen: Nadeln, Rosetten, Zwillingskristalle etc. vor. Die Florence'sche Lösung hatte folgende Zusammensetzung;

Jodure de potassiam pur	1,65
Jode (préalablement lavé)	2,54
Eau distillée	30,00

Florence prüfte nun alle möglichen Substanzen, mit denen teils absichtlich od. unabsichtlich Sperma vermischt sein kann, wie Vaginalschleim, Nasensekret, Blut, Harn, Schweiß, Speichel, Fäces, Eiter, Milch, Thränenflüssigkeit, Hydrocelenflüssigkeit, oder die eventuell Spermaflecken vortäuschen können, wie Gehirnsubstanz, Mehlteig und verschiedene Nahrungsmittel nach ihrem Verhalten zu seiner Lösung. Die Reaktion war stets negativ. Er schloß also, daß die Eigenschaft, mit seinem Reagens charakteristische Kristallformen zu bilden, dem Sperma allein zukomme, und da außerdem die Versuche mit dem Sperma der verschiedensten Tiere stets negativ ausfielen, nannte er seinen Körper Virispermin, indem er damit die Spezifität für menschliches Sperma andeutete.

So schien, wenn auch Florence selbst sich noch eine gewisse Zurückhaltung auferlegte, in der Tat das bedeutungsvolle Problem, menschliches Sperma auf chemischem Wege nachzuweisen, gelöst.

Es spricht für die Wichtigkeit der Sache, daß sich in der nun folgenden Zeit nach den aufsehenerregenden Mitteilungen Florence's die gerichtlich-medizinischen Forscher aller Länder mit wahren Bieneneyer auf die neue Entdeckung stürzten.

Diesen kritischen Forschungsarbeiten haben, wie wir gleich vorwegnehmen wollen, die Florence'schen Resultate leider nicht standzuhalten vermocht. Sie mußten im Laufe der Zeit beträchtliche Einschränkungen erfahren, sowohl im positiven wie im negativen Sinne.

Aus der Fülle der Einwendungen, die auf Grund späterer Experimente gemacht wurden, seien nur die wichtigsten erwähnt:

Richter gelang es, auch aus dem Vaginal- und Uterusschleim kleiner Kinder die Florence'schen Kristalle darzustellen. Ebenso konnte er aus dem Saft der Prostata und der Samenblasen eine positive Reaktion erzielen, sofern diese Organe sich im faulendem Zustande befanden, während die Versuche mit frischem Material wechselnde Resultate ergaben. Ein ähnliches Verhalten fand er bei Gehirnschubstanz: eingetrocknete gab positive, frische negative Resultate. Von den in Sperma selbst enthaltenen Verbindungen gab das aus Eidotter hergestellte Lecithin in teilweise zersetzten Zustände positive Reaktion. Diese und ähnliche Versuche konnten von Gumprecht, Dwornitschenko und Bocarius bestätigt werden. Letzterer wies besonders darauf hin, dass, was auch schon von anderen Forschern beobachtet worden war, die von Florence beschriebenen Kristalle sich auch mit verschiedenen anderen Körperorganen erzeugen lassen; so z. B. ausser mit Gehirnschubstanz mit Leberaufgüssen, und zwar nicht nur vom Menschen, sondern auch von Hunden, Ochsen, Kaninchen etc. Ausserdem untersuchte er Pferde- und Hundesperma (post coitum) und erhielt bei frischer Flüssigkeit negative, dagegen bei trockener positive Resultate. Ähnliche Beobachtungen waren vorher bereits von Mattei für das Pferd, Richter für den Hund, Tamassia und Poehl für verschiedene andere Tiere gemacht worden. Bocarius hatte auch noch Gelegenheit, Sperma von einem Delphin zur Untersuchung zu bringen, wobei ihm die Florence'sche Lösung ein positives Resultat, sowohl für das feuchte wie für das trockene Sperma lieferte; die dabei entstehenden Kristalle waren von geringerer Grösse.

All diese Tatsachen tun zur Genüge dar, daß ein positiver Ausfall der Florence'schen Probe absolut nicht beweisend ist für das Vorhandensein von Sperma überhaupt, geschweige denn von Sperma humanum.

Wie steht es nun aber im umgekehrten Fall? Ist ein negativer Ausfall für das Nichtvorhandensein von menschlichem Sperma beweisend?

Auch dies kann nicht als absolute Behauptung hingestellt werden. Zwar heben die meisten Untersucher die große Feinheit und Schärfe der Reaktion hervor: Cruz fand erst bei 400facher Verdünnung die Reaktion verschwinden und Bocarius stellte fest, daß, wenn man einen Tropfen Menschen-sperma von 800facher wässeriger Verdünnung abdampft und dann der Reaktion unterwirft, diese noch positiv ausfällt. Derselbe konnte aus einem Samenfleck von 22jähriger Dauer noch Florence'sche Kristalle darstellen. Auch hohe Temperaturen scheinen, wie aus den Untersuchungen von Mattei, Grigoriew und Folsky hervorgeht, bis zu einem gewissen Grade keinen schädigenden Einfluß auf die Kristallbildung auszuüben, ebensowenig nach Angabe bei den letzteren Autoren, die auch Bocarius bestätigt, die niederen Temperaturen. Indes gibt es doch auch hier Grenzen, und mit Recht macht P. Fraenkel den Einwurf, daß man nicht glauben dürfte, daß die Reaktion in Spermaflecken immer bis zu 22 Jahren erhalten bleibe. Fraenkel vermißte die Reaktion in faulendem Sperma, in dem sogar noch einzelne Spermatozoen vorhanden waren. Daß Fäulnis die Reaktion zu hindern vermag, haben auch andere Forscher wie Gumprecht und Dwornitschenko dargetan. Immerhin sind die Ansichten darüber geteilt. Auch soll nicht unerwähnt bleiben, daß es Posner gelungen ist, allerdings mit einem ziemlich komplizierten Verfahren, die Reaktion auch an faulendem Sperma doch noch zu erzielen. Aber von all dem ganz abgesehen, darf es als bewiesen gelten, dass gewisse Beimengungen die Reaktion zu hemmen oder ganz aufzuheben vermögen. Es sind dies solche Stoffe, welche mit Jod Lösungen oder Verbindungen einzugehen imstande sind. Dies trifft z. B. zu bei Äther und Alcohol, aber auch bei einer ganzen Reihe organischer Substanzen. So haben Minovici und Strassmann gezeigt, dass Beimengungen von Blut einen negativen Ausfall der Reaktion bewirken können, und ebenso vermag Harn, Eiter, Vaginalschleim u. a., sobald nur eine entsprechende Menge davon vorhanden ist, das Zustande-

kommen der Kristallbildung zu hindern.

So war denn über die Florence'sche Probe als sichere Methode zum Nachweis menschlichen Spermas unerbittlich der Stab gebrochen.

Aber nun drängte sich von selbst eine andere Frage auf: Wenn es das Florence'sche „Virispermin“ nicht gab, was war dann der geheimnisvolle Stoff, der mit den verschiedenartigsten tierischen, und, nach den Untersuchungen von Struve und Davidoff, auch pflanzlichen Produkten diese eigentümliche Kristallbildung hervorzurufen vermochte?

Richter hatte bereits die Vermutung ausgesprochen, daß die fragliche Substanz Cholin sei. Cholin ($C_5H_{15}NO_2$) als Bestandteil des Lecithins ist im Tierreich sehr verbreitet und läßt sich herstellen durch Kochen von Ochsenhirn, Eidotter, Galle mit Baryumhydroxyd. Man kann es auch synthetisch gewinnen, wenn man Aethylenoxyd mit Trimethylamin und Wasser erhitzt: $N(CH_3)_3 -|- C_2H_4O -|- H_2O = (HO)(CH_3)_3N(C_2H_4OH)$. Es bildet zerfließliche, ungiftige Kristalle von stark alkalischer Reaktion. Richter's Annahme fand eine kräftige Stütze durch die Untersuchungen von Bocarius. Dieser prüfte die Florence'schen Kristalle, die er gewonnen hatte aus Samenflüssigkeit des Menschen und Pferdes, Infus von Menschenleber, Menschengehirn und Ochsenleber auf ihren Gehalt an Platin und fand im Durchschnitt 31,62 % Pt, während für Cholinplatinchlorid 31,64 % Pt. berechnet sind. Erwähnt sei, daß beim Glühen ein starker Geruch nach Trimethylamin entstand. Bocarius kommt zu dem Schluß: Somit darf man behaupten, daß der Körper, welcher die Florence'sche Reaktion gibt, tatsächlich Cholin ist.

Die Annahme Florence's hatte sich also zwar in allen Teilen als irrtümlich herausgestellt, aber das Problem, von ihm einmal angeregt, ließ den Forschungsgeist nicht mehr zur Ruhe kommen. 10 Jahre nach seinen denkwürdigen Veröffentlichungen wurde von Barberio in Neapel eine neue Methode zum mikro-chemischen Nachweis menschlichen Spermas angegeben, die das, was die Florence'sche Entdeckung versprochen hatte, halten sollte.

Barberio verfährt folgendermaßen:

Auf einen Objektträger wird ein Tropfen Sperma gebracht und dazu etwa die Hälfte einer gesättigten, wässrigen Pikrinsäurelösung gegeben. Dabei erfolgt sogleich oder nach kurzer Zeit eine eigentümliche Trübung. Unter dem Mikroskop beobachtet man dann kleine, gelbe, stark lichtbrechende Kristalle von wechselnder Gestalt: Meistenteils handelt es sich um rhombisch begrenzte Nadeln, die 4—5 mal so lang als breit sind und deren Länge 5 — 20 Mikra beträgt. Daneben kommen auch durch Abschleifung der Ecken Körperchen von mehr ovaler Form, ferner durch Umbildung und Zusammenlegung zahlreiche Übergangs- und kombinierte Formen vor. Anstatt Pikrinsäurelösung kann man übrigens auch Esbach'sches Reagens oder Ammoniumpikrat verwenden.

Barberio hat nun die Reaktion bei keiner der von ihm untersuchten Substanzen erhalten, obwohl er Vaginalschleim, Nasensekret, Samenblaseninhalte und Prostata-saft verschiedener Tiere und auch den Samenblaseninhalt des Menschen auf seine Reaktion hin untersuchte. Ähnliche Kristalle gab ihm allerdings Sperrinum-Poehl, die jedoch nach Erhitzung derselben im Gegensatz zu der aus Sperma erhaltenen nicht wieder auftraten.

Selbstverständlich blieben auch für die Barberio'sche Reaktion die Nachprüfungen nicht aus. Vor allen war es Attilio Cevidalli, der durch eine große Reihe wertvoller Versuche zu einem Resultat gelangte, das sehr zu gunsten Barberio's ausfiel. Zunächst erprobte er außer den bereits von Barberio untersuchten noch verschiedene andere Substanzen, so den Saft von Leber, Gehirn, Milz und Nieren — mit negativen Erfolg. Da aber aus den Experimenten mit dem Florence'schen Reagens hervorging, daß verschiedene Organe erst ein positives Resultat ergeben, wenn sie einen gewissen Grad von Fäulnis erreicht haben, so dehnte er seine Versuche auch nach dieser Richtung hin aus und prüfte die obenerwähnten Organe in verschiedenen Stadien der Fäulnis. Auch hier waren die Resultate stets negativ, selbst

dann, wenn die Florence'sche Reaktion unzweideutig positiv ausfiel. Barberio hatte mit Tiersperma selbst keine Untersuchungen angestellt. Dies holte nun Cavidalli in gründlicher Weise nach, indem er verschiedene Tierspermen, so das Hunde-, Pferde- und Schweinesperma in verschiedenen Zeiträumen nach der Ejakulation untersuchte. Seine hierüber aufgestellten Tabellen bieten viele interessante Einzelheiten, besonders was den Vergleich mit der Florence'schen Reaktion anlangt, wodurch deren Unsicherheit auch hier dokumentiert wird. So liest man z. B.

Hundesperma A.

	Reaktion Fl.	Reaktion B
nach 18 Stunden	positiv	negativ
„ 24 „	„	„
Pferdesperma		
ungefähr 6 Stunden		
nach der Ejakulation	positiv	negativ
Schweinesperma		
18 Stunden nach		
der Ejakulation . . .	positiv	negativ.

Gegenüber dem wechselnden Ausfallen der Florence'schen Reaktion lieferten sämtliche der geschilderten Versuche mit Barberios Reaktion ein negatives Resultat.

Was den Einfluß der Zeit betrifft, so scheint dieser bei getrocknetem Material keine allzugroße Bedeutung zu haben. Es gelang Barberio selbst, die Reaktion von einem dreijährigen und Cavidalli von einem vierthalbjährigen Flecken zu erhalten. Die Resistenz gegen Fäulnis ist indessen nach Cavidallis und anderen Untersuchungen doch nicht so groß, als man dies aus den Angaben Barberios schließen könnte. Cavidalli fand in verschiedenen Fällen, daß bei mit Wasser verdünntem Sperma, das bei 28° Aussentemperatur sich selbst überlassen war, nach 5—6 Tagen die Kristallbildung nicht mehr auftrat. Ebenso war bei sehr schimmelig gewordenem Sperma die Reaktion schwach oder gar nicht vorhanden. Zu zustimmenden Resultaten kamen auch Dominicis, Majano

und Modica. Letzterer empfiehlt außerdem, das Reagens mit einem Zusatz von Glyzerin zu verwenden. Ebenso wenig gelang es Bocarius, die Reaktion mit irgend einem anderen Stoff als menschlicher Samenflüssigkeit zu erzielen. Bocarius hat auch zwei Modifikationen angegeben, welche die Mängel, die in der Kleinheit der Barberio'schen Kristalle sowie in dem Versagen der Reaktion bei einem geringen Überschuß der Pikrinsäurelösung bestehen, beseitigen sollen. Seine Reagentien setzen sich zusammen, wie folgt:

Sol. acidi Picronitrici aquos. concentr.	25,0
Cadmii iodati	3,0
Gummi arabici	2,0

beziehungsweise:

Acidi acetici glacialis.

Aquae destillatae pp ana

Acid. picronitrici q. s. ad saturationem.

Was die Empfindlichkeit der Reaktion betrifft, so konnte P. Fraenkel nachweisen, daß sie bei frischem Sperma noch bei 1000facher Verdünnung positiv ausfällt.

Trotz dieser im allgemeinen günstigen Resultate mahnten doch die Erfahrungen, die man mit Florence's Reaktion gemacht hatte, zur Skepsis. So konnten denn auch, nachdem bereits Levinson auf ein manchmaliges Versagen der Methode bei der klinischen Diagnose aufmerksam gemacht hatte, Fraenkel und Müller bald darnach den noch zweifelhafteren Wert des Verfahrens für die forensische Anwendung beleuchten. Hier handelt es sich in den allermeisten Fällen um den Spermanachweis aus Flecken. Nun verhalten sich aber Auszüge aus derartigen Spermaflecken in der Tat anders, als man es bei der großen Empfindlichkeit der Probe von vornherein hätte annehmen sollen. Denn bei den älteren Flecken, nicht selten sogar nur einige Monate oder Wochen alten, ist es den beiden obengenannten Untersuchern häufig nicht gelungen, eine typische Reaktion zu erzielen, auch wenn die Florence'sche Reaktion deutlich positiv ausfiel. Ich kann dieses Resultat bestätigen: es gelang mir an meinem Material (ca. 5 Monate

alten Spermaflecken auf Leinwand) nur noch mit Hilfe des von Barberio angegebenen Kunstgriffes: Verdunstenlassen mehrerer Tropfen an ein und derselben Stelle des Objektträgers, eine spärliche Kristallbildung zu erzwingen, während mit Florence's Reagens sofort zahlreiche Kristalle auftraten. Mit Recht weist Fraenkel auch auf die Kleinheit und geringe Charakterisierung der Barberio'schen Kristalle hin, die bei relativ geringer Verunreinigung des Präparats eine Identifizierung in der Tat zur Unmöglichkeit machen können. Die Bocarius'sche Modifikation, die diesen Misstand auszuschalten sucht, ist unzuverlässig, da sie auch mit anderen Eiweißlösungen, besonders mit gefaultem Hühnereiweiß, die gleichen Kristallformen liefert.

Dass übrigens auch die Barberio'sche Reaktion keineswegs Sperifität beanspruchen darf, geht daraus hervor, daß es späterhin Majano gelungen ist, wenn auch unter entsprechender Vorbehandlung, aus dem Saft von menschlicher Lunge, Leber und Milz mit Pikrinsäurelösung Kristalle zu erhalten, die durchaus den Barberio'schen entsprechen, ebenso de Dominicis aus verschiedenen anderen menschlichen und tierischen Organen. P. Fraenkel konnte dieselben Kristalle nach Erhitzen mit verdünnten Säuren aus Leber, Milz und Thymus gewinnen.

Jedenfalls — und das ist das wichtigste — beweisen die angeführten Tatsachen, daß wir auch nach Barberio nicht der Aufgabe enthoben sind, nach morphologischen Elementen zu fahnden, wo es sich darum handelt, den einwandfreien Beweis zu liefern, daß Spermaflüssigkeit vorliegt. Denn nur der Nachweis, wenn auch nur eines einzigen Spermatozoons, gibt uns vorderhand das Recht, die Diagnose Sperma mit Bestimmtheit auszusprechen.

Um Spermatozoen im Mikroskop zu Gewicht zu bringen, ist es vor allem notwendig, auf ihre geringe Widerstandsfähigkeit gegen mechanische Insulte entsprechend Rücksicht zu nehmen; sodann ist es erwünscht, sie besser aus der Umgebung hervortreten zu lassen. Mit dem ersten Punkt

beschäftigen sich die verschiedenen Methoden, die darauf abzielen, ein mikroskopisches Präparat mit einem möglichsten Minimum von Läsion herzustellen. Der zweiten Aufgabe suchen die mannigfaltigen Färbemethoden gerecht zu werden.

Seit langem verfuhr man bei der Herstellung eines Präparats in der Weise, dass man den verdächtigen Fleck je nach dem Grade der Austrocknung längere oder kürzere Zeit aufweichte und dann auspresste. Als Aufweichungsmittel diente ursprünglich das Wasser; doch fand man bald, daß sich andere Flüssigkeiten besser dazu eigneten. So wurde z. B. das Glyzerin angewandt, welches eine Aufhellung des Präparats bewirken soll. Zum selben Zwecke benützte Lasaigne die Kalilauge, Filmousi-Guelfi verdünntes Ammoniak. Einen Fortschritt brachte die im Jahre 1860 von Frankreich durch Robin und Tardieu herübergekommene Anregung, man solle, um die Spermatozoen zu schonen, etwas von dem zu untersuchenden Fleck abheben: „procédé par raclage“, während Roussin den mühsameren Weg einschlug, indem er das Untersuchungsobjekt aufbesserte: „procédé par effilochage“. Ein Verfahren, das die mechanische Bearbeitung des zu untersuchenden Materials überhaupt auszuschalten sucht, stützt sich auf die Erfahrungstatsache, daß die Spermatozoen gegen chemische Einwirkungen eine gewisse Widerstandsfähigkeit besitzen. Vogel machte daher den Vorschlag, das Gewebe durch Schwefelsäure zu zerstören und auf diese Art die Spermatozoen zu isolieren. Diese Methode, die bald in Vergessenheit geriet, griffen später Grigorjew und de Dominicis mit geringer Modifikation wieder auf. Dieselbe hat in aller neuester Zeit durch L. Marique, von ihm wesentlich verfeinert, in einer vor wenigen Monaten erschienenen Arbeit eine sehr warme Empfehlung gefunden. Wir werden weiter unten darauf zurückkommen.

Von Färbenmethoden nenne ich die Schaitter'sche Färbung mit Eosin, ferner die Methylgrünfärbung nach Unger. Letztere Methode, bei der die hintere Partie des Kopfes stärker gefärbt wird als die vordere, brachte Steilberger

auf den Gedanken einer Doppelfärbung. Er bediente sich dazu des Haematoxylin und Eosins. Hierbei werden die Köpfe blau, die Schwänze rot gefärbt.

Originell ist das Verfahren von Perrando: Das zu untersuchende Material wird in Streifchen geschnitten, diese zusammengebunden und auf 1—2 Tage in die Farblösung gebracht, hierauf ebenso lange ausgewässert, sodann auf den Objektträger gebracht, der mit einer Lösung von Gummi und Zucker beschickt ist. Nach dem Erstarren, das nach ungefähr 24 Stunden vollendet ist, werden die angeklebten Stückchen vorsichtig mit einem scharfen Messer bis auf die unterste (spermatozoenhaltige) Schicht abgetragen und der bleibende Rest mit verdünntem Ammoniak gelöst.

Corin und Stockis empfehlen als Farbstoff die jodhaltigen Derivate des Fluorescins, nämlich das Rose bengale (Tetrajodichlorfluorescin) und namentlich das Erythrocin (Tetrajodfluorescin). Die Mitfärbung des die Flecken enthaltenden Gewebes soll sich vermeiden lassen bei Anwendung einer ammoniakalischen Lösung (Erythrocin 0,5, Ammoniak 100,0). Das Verfahren soll sich besonders dazu eignen, bei größeren Grundflächen eine rasche Orientierung über den Charakter verdächtiger Flecke zu ermöglichen.

Baecchi hat eine Färbemethode angegeben, der er besonders den Vorzug nachrühmt, daß sie die Gewebfasern ungefärbt lasse, während sie die Spermatozoen selbst intensiv färbe. Ich lasse dieselbe nach seinen eigenen Angaben hier folgen:

- A. 1. Färbung eines Fadens des verdächtigen Gewebes in einer konzentrierten, wässrigen Lösung von saurem Fuchsin (15—30 Sekunden).
2. Entfärbung des Fadens in salzsaurem Alkohol (70% Alkohol 100 ccm, Salzsäure 1 ccm) 10—30 Sekunden bis er ein blassrosa Kolorit angenommen hat.
3. Passage durch absoluten Alkohol (15—20 Sekunden).

4. Auffaserung auf einen Objektträger in einem Tropfen Xylol.

Baecchi erprobte schliesslich auch noch eine Reihe anderer Farbstoffe. Brauchbare und wirklich wertvolle Resultate gab ihm nur das Methylenblau, bei dessen Anwendung sich das Färbungsverfahren folgendermaßen gestaltet:

- B. 1. Färbung eines Fadens des verdächtigen Gewebes in einer konzentrierten, wässrigen Lösung von Methylenblau (10—20 Minuten).
2. Entfärbung in 70%igen Alkohol (bis der Faden eine helle bläulichgrüne Färbung zeigt).
3. Ungefähr 1—2 Sekunden dauernde Passage durch salzsauren Alkohol (Formel oben angegeben).
4. Entwässerung in absolutem Alkohol.
5. Zerfasern und Einbetten in Xylol.

Eine Doppelfärbung erzielt man nach ihm auf folgende Weise:

- C. 1. Färben mit saurem Fuchsin und Entfärbung in salzsaurem Alkohol nach A.
2. Abwaschen in 70%igen Alkohol.
3. Färben mit Methylenblau und Entfärbung nach B.
4. Auffasern in Xylol und Einbetten des Präparates.

Die neueste Methode des Spermatozoennachweises dürfte ein von D. Gasis angegebenes Verfahren bilden, das in einer erst vergangenen Sommer erschienenen Arbeit veröffentlicht ist. Gasis kam bei seinen Untersuchungen zu dem Ergebnis, daß alle bis jetzt angewandten Macerationsflüssigkeiten, die zur Aufweichung und Ablösung der Spermatozoen benützt wurden, auf diese schädigend einwirken. Er fand nun in einer Lösung von Quecksilberchlorid (1:1000) ein Mittel, das diese Nachteile nicht aufweisen soll. Setzte er ferner seiner Lösung einige Tropfen Salzsäure hinzu bis zu ausgesprochen saurer Reaktion, so konnte er die Wirkung beschleunigen, ohne den Spermatozoen zu schaden. Das Verfahren kann zur gleicher Zeit zur Anreicherung von Spermatozoen dienen, wenn man unter reichlicherer Zugabe

von Macerationsflüssigkeit längere Zeit stehen läßt oder zentrifugiert. Einen weiteren Vorteil seiner Lösung will Gasis darin erblicken, daß sie die Spermatozoen für die nun folgende Färbung, die übrigens nicht absolut notwendig ist, gewissermassen vorbereitet, indem sie einerseits eine Tinktion der Spermatozoen ermöglicht, anderseits eine Entfärbung der übrigen Bestandteile des Präparates erlaubt. Er erklärt dies damit, daß das Quecksilberchlorid ein ausgezeichnetes Beizmittel für den von ihm verwendeten Farbstoff, das Eosin abgebe. Dadurch gestaltet sich die Prozedur folgendermaßen:

Nach Vorbehandlung in der Mazerationsflüssigkeit (2—5 Minuten) werden die Zeugstückchen mit einem Glasstab ausgepresst, ein Tropfen auf den Objektträger gebracht, bei leichter Flamme getrocknet und 1 Minute in 1%iger wässriger Eosinlösung gefärbt; hierauf Entfärbung in 1%iger wässriger Jodkalilösung einige Sekunden lang, bis das Präparat eine leichte Rosanuance annimmt. Sind keine Spermatozoen zu finden, dann Anreicherung: Die Gewebestückchen werden in 10—20 ccm der Quecksilberchloridlösung gebracht, 5 Minuten stehen gelassen, dann mittels Glasstabes ausgepresst und herausgenommen; hierauf $\frac{1}{2}$ Stunde stehen lassen oder zentrifugieren. Es sei hier übrigens erwähnt, dass P. Fränkel und unabhängig von ihm Corin bereits im Jahre 1907 Anreicherungsverfahren angegeben haben, die im wesentlichen ebenfalls auf ein Sedimentierenlassen der Spermatozoen in einem Ueberschuß der Mazerationsflüssigkeit und Zentrifugieren hinausläuft.

Ich habe nun die sämtlichen Methoden zur Darstellung der Spermatozoen, soweit sie heutigentags noch praktisch in Frage kommen, durchgeprobt.

Was zunächst das Perrando'sche Verfahren betrifft, so habe ich damit keine so günstigen Resultate erzielt, als dies von mancher Seite geschehen ist. Obwohl ich genau nach Verschrift verfuhr, gelang es mir doch trotz Anwendung der verschiedensten Farbstoffe nur bei wenigen Präparaten, einwandfreie Spermatozoen zu finden. Vielleicht

eignet sich das Verfahren besser für frisches Material. Auch gebe ich gerne zu, daß ein Untersucher, der die Technik besser beherrscht, zu günstigeren Ergebnissen gelangen mag. Aber ich glaube doch nicht zu viel zu behaupten, wenn ich die Annahme ausspreche, daß man selbst unter der günstigsten Bedingung immer wird mit Versagern zu rechnen haben. Kommt dazu noch das Komplizierte und Umständliche der ganzen Methode, so glaube ich, daß dieselbe für die Praxis nicht zu empfehlen ist.

Von der Methode nach *Corin* und *Stockis* kann ich nur das bestätigen, was bis jetzt alle Nachuntersucher gefunden haben: daß sie nicht das ist, was sie sein will, nämlich ein differenzierendes Färbeverfahren. Besser als viele Worte dürfte dies das Urteil *L. Mariques* illustrieren, das wohl den Kernpunkt der ganzen Sache am besten trifft: „ . . . malheureusement ce colorant ne colore pas les queues des spermatozoides. Pour teinter celles-ci, il faut se servir d'une solution plus concentrée, ce qui a le désavantage de colorer en même temps les fibres de la toile.“ Wertvoll scheint mir indes die Methode da zu sein, wo es mikroskopisch nicht möglich ist, verdächtige Flecken zu finden. Taucht man in solchen Fällen das ganze Gewebe in die Farblösung, so kann das stärkere Angehen an spermahaltigen Teilen häufig noch auf die richtige Spur führen.

Recht schöne Präparate erhielt ich mit dem Verfahren von *Baecchi*: Gleichgültig, ob ich A, B oder C (siehe oben) anwandte, fast immer ließen sich auf oder zwischen den ungefärbten, durchsichtigen oder nur ganz schwach gefärbten Gewebfasern wohlerhaltene Spermatozoen auffinden. Ich kann mir daher keineswegs das Urteil *Gasis'* zu eignen machen, welcher die *Baecchi'sche* Methode mit dem Satz abgetan glaubt: „Einige in der letzten Zeit erschienene Arbeiten beschäftigen sich mit der besseren Färbung der Spermien (*Baecchi*), obschon den Spermien keine besondere färberische Eigenschaft zukommt.“ Tatsache ist, daß sich mit der Methode

deutlich gegen die Umgebung abgesetzte Spermatozoen darstellen lassen.

Bevor ich in eine Kritik des neuen „Schwefelsäureprozesses“ L. Mariques eintrete, ist es notwendig, noch kurz dessen Grundideen darzulegen. Marique's Streben war darauf gerichtet, bei möglichster Auflösung der Gewebsmasse eine möglichste Schonung der Spermatozoen zu erzielen. Concentrierte Schwefelsäure vermag dies nicht zu leisten. Es gibt nun in der Verdünnung sowohl nach oben wie nach unten hin eine Grenze, wo die genannten Forderungen nicht mehr zur Geltung kommen. Indem Marique ein neues Hilfsmittel, nämlich die Erwärmung einführte, konnte er die Auflösung des Gewebes ganz enorm beschleunigen, was gleichzeitig wieder der Conservierung der Spermatozoen zu gute kommt. Die nötige Wärme aber erhielt er durch die im Moment des Zusammentreffens von Wasser mit Schwefelsäure eintretende Temperatursteigerung. Wie für den Verdünnungsgrad, so fand er nun auch für den Wärmegrad ein Optimum. Dieses liegt für den ersteren zwischen 70 und 90⁰/₁₀ für den letzteren ungefähr bei 80⁰. Beides erreicht er durch Zusammenbringen einer geeigneten Menge Wassers mit einer bestimmten Menge der Säure. Ich kann hier den ganzen Vorgang, wie er sich auf diesen Erwägungen aufbaut, und dessen Beschreibung viel umständlicher ist als die Ausführung, nur in groben Umrissen angeben: Zunächst wird ein 2 cm im Quadrat haltendes Stückchen des verdächtigen Gewebes ausgeschnitten; in ein Reagensglas kommen 4 ccm concentrirte Schwefelsäure, der vorsichtig, ohne die Flüssigkeit zu bewegen, 1 ccm destilliertes Wasser zugegeben wird. Nun wird das Gewebstückchen in die Lösung gebracht und kräftig geschüttelt. Durch diese Mischung wird eine Temperaturerhöhung von 82⁰ erzeugt. In wenigen Sekunden ist das Gewebe gelöst. Nach einer halben Minute tritt eine leichte Brennfärbung der Flüssigkeit ein, in der man mikroskopisch wahrnehmbare Elemente suspendiert findet. Jetzt werden rasch, um die Temperatur nicht höher als 80, 85⁰ steigen zu lassen, 15 ccm kalten Wassers

zugegeben. Man sieht dann sofort sehr viele Luftblasen auftreten, die der Oberfläche zustreben. „Outre ces bulles gazeuses on voit également s'élever une série de petites masses irrégulières opalescentes, blanchâtres, on brunâtres de dimensions variables, mais ne dépassant guère $\frac{1}{2}$ à 1 millimètre de diamètre, souvent aussi, (surtout s'il s'agit d'une toile grossière) de fils de $\frac{1}{2}$ à 1 centimètre de long, qui sont épaissis, goufflés.“ Das Aufsteigen dieser Massen kann man durch öfteres Aufstoßen des Reagensglases beschleunigen. Die Verdünnung, die man durch das nochmalige Aufgiessen des Wassers erhalten hat, ist einerseits gerade recht, um den Spermatozoen auch bei längerem Verweilen nicht zu schaden, andererseits nicht stark genug, um die Dichtigkeit, die notwendig ist um die spermatozoenhaltigen Partikelchen an die Meniskusoberfläche steigen zu lassen, beträchtlich herabzusetzen. Zum Schluß Herausnahme mit Spatel oder Platinöse, auf einen Objektträger und Fixieren des Präparats durch 3-4 maliges Durchziehen durch die Flammen. Ich muß sagen: Diese Methode hat mir geradezu überraschende Resultate geliefert. Es gelang mir mit ihr, in jedem Falle ausgezeichnet erhaltene Spermatozoen in großer Zahl zu Gesicht zu bringen. Will man ausserdem färben, was in den meisten Fällen überflüssig sein dürfte, so verwendet man mit Vorteil die gleichfalls von Marique angegebene alkoholische Eosinlösung (1 : 200) eventuell nachfolgende Contrastfärbung mit Löffler-Blau. Ich möchte nochmals betonen, daß ich mit dieser Methode Resultate erzielt habe, welche die Resultate aller anderen Methoden weit hinter sich lassen.

Relativ wenig leistet die neueste Methode von D. Gasis. Zwar konnte ich mit ihr fast stets einige einwandfreie Spermatozoen auffinden, aber so schön konservierte und namentlich so zahlreiche Elemente wie mit dem Marique'schen Verfahren erhielt ich niemals. Die Köpfe erinnerten mich manchmal in der Gestalt sehr an die bekannte Maulbeerform der roten Blutkörperchen. Wie mir scheint, haben auch die alten Mazerationsverfahren so Schlechtes geleistet, nicht so sehr, weil

die Mazerationsflüssigkeit falsch gewählt war, sondern, weil das Verfahren an sich auch bei größter Vorsicht immer noch als ein rohes bezeichnet werden muß in Anbetracht der zarten Gebilde, wie sie die Spermatozoen darstellen. Darin aber hat Gasis keinen Fortschritt gebracht.

Wenn ich also kurz resumiere, so muß ich unter allen Verfahren zum Spermatozoennachweis — und nur ein solcher ist, wie wir oben gesehen haben, für den Nachweis menschlichen Spermas stichhaltig — nach meinen Erfahrungen dem neuen „Schwefelsäureprozeß“ Mariques unbedingt die erste Stelle einräumen und seine Anwendung in allen geeigneten Fällen empfehlen. Nun liegen freilich in der Praxis die Verhältnisse häufig ganz anders, und man muß hier mit den verschiedenartigsten Situationen rechnen. Es kann z. B. der Fall sein, daß man es nur mit einem ganz kleinen Fleck zu tun hat. Hier wird es kaum einen Untersucher geben, der sozusagen das ganze Spiel auf eine Karte setzen und bei einem etwaigem Mißlingen des Marique'schen Verfahrens sich aller Chancen begeben wollte. Hier ist meiner Ansicht nach das Baecchi'sche Verfahren das gegebene: Untersuchung jeden einzelnen Fadens. Nur auf diese, zwar mühsame Weise wird sich entscheiden lassen, ob in dem verdächtigen Fleckchen überhaupt ein Spermatozoon vorhanden ist. Die von Gasis angegebene Methode dürfte in jenen relativ seltenen Fällen zu ihrem Recht kommen, wo es sich um Flecke auf nicht imbibierbarer Grundlage wie Holz, Glas etc. handelt. Das Färbeverfahren von Corin und Stockis endlich wird da anzuwenden sein, wo es mikroskopisch nicht gelingt, verdächtige Flecke zu entdecken.

Diese 4 Methoden, richtig angewendet, dürften in allen vorkommenden Fällen ausreichen. Als Idealverfahren für den Spermanachweis kann freilich ein Verfahren, das von solch zarten, zerbrechlichen und allen möglichen Insulten unterworfenen Gebilden, wie wir sie in den Spermatozoen kennen, abhängig ist, noch lange nicht bezeichnet werden.

Florence und Barberio haben diesen Ubelstand durch ihre mikro-chemischen Verfahren auszuschalten, bzw. zu umgehen versucht. Leider haben die Erwartungen nicht vollauf entsprochen. Haben diese Methoden nun aber deshalb für uns jeden Wert verloren? Keineswegs. Denn auch heute noch schätzen wir dieselben als wertvolle Vorproben, mit denen es in vielen Fällen möglich sein wird, uns rasch darüber zu orientieren, ob wir es voraussichtlich mit Sperma zu tun haben. Wir dürfen uns dabei natürlich weder mit einem positiven noch mit einem negativen Resultat begnügen. Aber mit dieser Präesumption wird die Florence'sche und auch die Barberio'sche Methode noch lange ein nützliches Requisit des Gerichtsarztes bleiben, auf das er nicht wird verzichten wollen.



Am Schlusse meiner Arbeit habe ich die angenehme Pflicht, Herrn Professor Dr. Schüle für seine Anregung sowie freundliche Überlassung des Materials — dasselbe stammte von einem im Freiburger Diakonissenhaus in Behandlung stehenden und an Spermatorrhoe leidenden Neurastheniker — meinen ergebensten Dank auszusprechen.

Auch Herrn Medizinalrat Dr. Barbo, der mir die reiche Bibliothek der Pforzheimer Heil- und Pflegeanstalt in liberalster Weise zugänglich machte, sei an dieser Stelle herzlichst gedankt.

Lebenslauf.

Ich, Hans Heinrich Hermann, wurde am 8. Mai 1884 zu Memmingen in Bayern geboren. Dort absolvierte ich das Progymnasium und trat zur Vollendung meines Gymnasialstudiums an das humanistische Gymnasium in Kempten über, das ich im Juli 1904 mit dem Zeugnis der Reife verließ. Im Herbst desselben Jahres liess ich mich an der Universität München in die medizinische Fakultät einschreiben, studierte dort 4 Semester und ging dann im Wintersemester 1906/07 nach Würzburg, um mich am Ende desselben der ärztlichen Vorprüfung zu unterziehen. Das Sommersemester 1907 verbrachte ich in Kiel. Vom Wintersemester 1907/08 bis Sommersemester 1908 war ich in Freiburg i. Br. und vom Wintersemester 1908/09 bis Sommersemester 1909 in Jena immatrikuliert. Dort meldete ich mich im Oktober zum medizinischen Staats-Examen u. kam nach dessen Beendigung (14. Jan. 1910) an die Heilstätte Nordrach-Kolonie als Medizinalpraktikant. (17. Januar bis 15. September 1910) und von da in derselben Eigenschaft an das Kinderkrankenhaus Siloah und evang. Diakonissenhaus in Pforzheim. Seit 17. Januar 1911 bin ich an den genannten Anstalten als Assistenzarzt tätig.

Literatur.

- C. Arnold: Repetitorium der Chemie.
- M. Barberio: Nuova reazione microchimica dello sperma e sua appliazione nelle ricerche medico-legali (Estratio del). Rend. della R. Academia delle Scienze Fisiche e Mathematiche di Napoli. Aprile 1905.
- Brunetto Baecchi: Neue Methode zum Nachweis von Spermatozoen in Zeugflecken. Deutschmed. Wochenschrift 1909 Nr. 25
- N. Bokarius: Florence's Kristalle und deren forensische Bedeutung. Viertelj. f. ger. Med. 1901. XXI.
Ueber einige mikro-chemische Reaktionen des Spermas. Viertelj. f. ger. Med. 1907. XXXIII.
- Attilio Cavidalli: Ueber eine neue mikro-chemische Reaktion des Sperma. Viertelj. f. ger. Med. 1906. XXXI.
- G. Corin: Procédé nouveau pour la recherche des spermatozoides. Extrait des Annales de la Société de Médecine légale de Belgique. 1907.
- G. Corin u. G. Stockis: Neues Verfahren zum Aufsuchen von Samenflecken auf Leinwand. Annales de la soc. de méd. lég. de Belgique 1908.
Zeitschrift f. Medizinal-Beamte 1909 XXII. Sonderabdruck.
- Cruz-Gonçales: La recherche du Sperme par la reaction de Florence. Ann. d'hyg. publ. et de méd. lég. 1898. XXXIV.
- De Dominicis: Genesi valore di un nuova reazione dello sperma. Giorn. internaz. di scienze mediche 1906 XXVIII. 5.
- Doornitschenko: Einige Beobachtungen über die Untersuchung von Blut und Samenflecken. Viertelj. f. ger. Med. 1900. XX.
- Florence: Du sperme et des taches du sperme en médecine légale. Archives d'Anthropologie criminelle. F. X und XI.
- P. Fraenkel: Der gegenwärtige Stand des forensischen Spermanachweises. Zeitschrift f. Medizinal-Beamte 1907. XX.
- Paul Fraenkel und Rudolf Müller: Über die praktische Bedeutung der Barberio'schen Spermareaktion. Deutsch. med. Wochenschrift 1908 Nr. 16.
- Galbo: Sulla nuova reazione microchimica dello sperma del Barberio. Riforma medica 1906 XXII.
- Demetrius Gasis: Zur Auffindung der Spermatozoen in alten Spermaflecken. Deutsch. med. Wochenschrift 1910 Nr. 29.
- Max Goldschmidt: Die Florence'schen Probe. Inaugural-Diss. Greifwald 1903.
- Grigorjew: Zur Frage der Technik bei der Untersuchung von Blut- und Samenflecken in gerichtl.-medizinischen Fällen. Viertelj. f. ger. Med. 1902 XXIV.
Über Benutzung der Florence'schen Reaktion. Vort. auf d. T. Pirogow-Congreß. Kasan 1899.
- Gumprecht: Über das Wesen der Jodreaktion (Florence'ssche Reaktion) im Sperma und außerhalb desselben. Centralblatt f. allg. Pathologie und patholog. Anat. IX. 14. 15.

- Lecco: Über die mikrochemische Erkennung der Spermaflecke in Kriminalfällen. Wiener klin. Wochenschrift 1897 Nr. 37.
- Majano: Sulla nuova reazione microchimica dello sperma. Giorn. dell'associaz. Napol. dei Medici e Naturalisti 1906. XV.
- L. Marique: Nouveau procédé pour la recherche des spermatozoides. Extrait des Archives internationales de Medecine legale. Avril 1910.
- Em. Mattei: Influenza di alcuni fattori sulla reazione microchimica del Florence in rapporto alla Medicina legale. L'Ufficiale sanitario Rivista d'Igiene e di Medicina pratica. Anno XI. 1898.
- Modica: Sulla nuova reazione microchimica dello sperme. Arch. di Fauna ecologia speriment e scienze affini. Dicembre 1905. Vol. IV.
- Posner: Zentralblatt für die med. Wissenschaft 1890.
- Die Barberio'sche Reaktion auf Sperma. Zeitschr. f. Urologie 1907. Bd. 1.
- Rehberg: Der forensische Spermanachweis nach Corin und Stockis. Ärztl. Sachverständigen.-Ztg. 1909 Nr. 7.
- Richter: Der mikrochemische Nachweis von Sperma. Wiener klin. Wochenschrift 1897 Nr. 20.
- Steilberger: Nachweis von Sperma zu forensischen Zwecken. Inaug.-Diss. Bonn 1887.
- Struve: Zur Bedeutung der Florence'schen Reaktion. Zeitschrift f. analyt. Chemie, Heft 1. XXXIV.
-

Druckfehlerberichtigung.

- Seite 6 Zeile 5 von oben anstatt potassiam lies potassium.
Seite 7 Zeile 5 von oben anstatt im lies in.
Seite 7 Zeile 10 von oben anstatt zersetzten lies zersetztem.
Seite 8 Zeile 13 von oben anstatt bei den lies der beiden.
Seite 10 Zeile 14 von unten anstatt Barberios'sche lies Barberio'sche.
Seite 12 Zeile 17 von oben anstatt könnte lies konnte.
Seite 13 Zeile 5 von unten anstatt Gewicht lies Gesicht.
Seite 14 Zeile 15 von oben anstatt Tardicu lies Tardieu.
Seite 14 Zeile 18 von unten anstatt aufbesserte lies auffaserte.
Seite 15 Zeile 16 von unten anstatt Grundflächen lies Gewandflächen.
Seite 19 Zeile 4 von unten anstatt Brennfärbung lies Braunfärbung.
Seite 22 Zeile 1 von oben anstatt Ubelstand lies Übelstand.

